



①⑨ **BUNDESREPUBLIK
DEUTSCHLAND**



**DEUTSCHES
PATENT- UND
MARKENAMT**

⑫ **Offenlegungsschrift**
⑩ **DE 198 45 251 A 1**

⑤① Int. Cl.⁷:
C 07 K 7/08
C 07 K 14/435

②① Aktenzeichen: 198 45 251.9
②② Anmeldetag: 1. 10. 1998
④③ Offenlegungstag: 9. 3. 2000

DE 198 45 251 A 1

⑥⑥ Innere Priorität:
198 40 737. 8 07. 09. 1998

⑦① Anmelder:
Eberhard-Karls-Universität Tübingen
Universitätsklinikum, 72076 Tübingen, DE

⑦④ Vertreter:
Witte, Weller, Gahlert, Otten & Steil, 70178 Stuttgart

⑦② Erfinder:
Schlüsener, Hermann J., Prof., 72076 Tübingen, DE;
Dürr, Daniel, 72070 Tübingen, DE

⑤⑥ Entgegenhaltungen:
WO 97 10 507 A1

Die folgenden Angaben sind den vom Anmelder eingereichten Unterlagen entnommen

Prüfungsantrag gem. § 44 PatG ist gestellt

⑤④ Peptide für Pharmatargeting

⑤⑦ Es wird ein Verfahren zur Selektion von Peptiden für zielgerichtete Pharmaka- und/oder Markertransport beschrieben, bei dem eine Phagendisplay-Bibliothek einem Tier appliziert und eine bestimmte Zielstruktur nach Inkubation aus dem Tier präpariert wird. Aus der Zielstruktur werden selektierte Phagen isoliert, die nach entsprechender Amplifikation in einer neuen Runde einem weiteren Tier appliziert werden. Mit dem Verfahren selektierte Peptide, die die Darmmukosa penetrieren und an Endothelzellen von Tumoren und entzündlichen Läsionen binden sowie in den Tumor transloziert werden, sind ebenfalls offenbart.

DE 198 45 251 A 1

Die vorliegende Erfindung betrifft ein Verfahren zur Selektion von Peptiden für zielgerichteten Pharmaka- und/oder Markertransport sowie mit dem Verfahren selektionierte Peptide und deren Verwendung.

5 In den letzten Jahren hat das sogenannte Pharmatargeting zunehmend an Bedeutung gewonnen. Unter Pharmatargeting wird allgemein der selektive Transport von Therapeutika und/oder Diagnostika, im folgenden übergreifend mit "Pharmaka" bezeichnet, zu einem zu therapierenden oder diagnostisch zu erfassenden Zielgewebe, -organ etc., im folgenden mit "Zielstruktur" bezeichnet, im menschlichen oder tierischen Körper verstanden.

10 Durch den zielgerichteten Einsatz von Pharmaka erhofft sich die Fachwelt vor allem eine Reduzierung der Dosierung sowie eine drastische Verringerung unerwünschter Nebenwirkungen, da die Pharmaka durch das sogenannte "targeting" überwiegend der Zielstruktur zugeführt werden, so daß Beeinträchtigungen des restlichen Organismus weitgehend vermieden werden können. Duncan, "Drug Targeting: Where Are We Now and Where Are We Going?", Journal of Drug Targeting, 1997, Band 5, Nr. 1, Seiten 1-4 gibt einen kurzen Überblick über die zugrunde liegende Technologie sowie bereits auf dem Markt befindliche Produkte, zu denen Antitumor-Antikörper, Polymer-Konjugate sowie liposomale Transportsysteme zählen. Langer beschreibt in "Drug Delivery and Targeting", Nature 1998, Band 392/SUPP, Seiten 5-10 die Möglichkeit, pharmazeutische Agenzien in einem Polymer oder Lipid einzukapseln oder daran zu koppeln, um neue Therapien zu ermöglichen sowie die Sicherheit und Wirksamkeit der Pharmaka zu erhöhen. Die wirtschaftliche Bedeutung des Pharmatargeting läßt sich daran ermes- sen, daß bis zu 15% aller Krankenhausaufenthalte, einige hunderttausend Tote sowie mehr als einhundert Milliarden US-Dollar Kosten des Gesundheitssystems in den USA jedes Jahr auf Arzneimittelnebenwirkungen zurückzuführen sind (Langer, a.a.O.).

Auch in der Gentherapie wird der zielgerichtete Einsatz von Agenzien, hier von DNA-Segmenten tragenden Vektoren für in vivo Anwendung diskutiert. In diesem Zusammenhang wird unter "gene targeting" die Verwendung der homologen Rekombination verstanden, um definierte Änderungen an dem Genom vorzunehmen, d. h. eine genaue Korrektur genetischer Defekte; siehe Yáñez and Porter, "Therapeutic Gene Targeting", Gene Therapy, 1998, Band 5, Seiten 149-159.

25 Ein vielversprechender Ansatz für zielgerichtete Transportsysteme für Krebs-Therapeutika wird in kurzen Peptiden gesehen, an die die Therapeutika gekoppelt sind und die spezifisch an angiogene Endothelzellen binden; siehe Barinaga, "Peptide-Guided Cancer Drugs Show Promise in Mice", SCIENCE, 1998, Band 279, Seiten 323-324. Die kurzen Peptide der Konjugate sollen dabei an die den Tumor versorgenden Blutgefäße binden, so daß die Pharmaka die die Tumore versorgenden Endothelzellen abtöten können.

30 Die experimentelle Entwicklung von Strategien zur Synthese von derartigen chimären Peptiden, insbesondere zur Bereitstellung der spezifischen Peptide, nimmt in der wissenschaftlichen Literatur einen immer größer werdenden Raum ein. Ein Ansatz besteht darin, ein Phagensystem zu verwenden, bei dem durch genetische Verfahren auf der Oberfläche der Phagen Zufallspeptide präsentiert werden, deren Bindung an Zielstrukturen zur Selektion des Phagen und damit der Peptid-kodierenden DNA-Sequenz genutzt werden. Der M13-Phage hat sich als geeignet für derartige "Phagendisplay-Bibliotheken" erwiesen, um z. B. DNA-bindende Proteine mit neuen Eigenschaften sowie Proteinstrukturen mit Bindungs- und Katalyseeigenschaften zu entwickeln; siehe O'Neil and Hoess "Phage Display: Protein Engineering by Directed Evolution", Current Opinion in Structural Biology, 1995, Band 5, Seiten 443-449.

Barry et al., "Toward Cell-Targeting Gene Therapy Vectors: Selection of Cell-Binding Peptides from Random Peptide-Presenting Phage Libraries", NATURE MEDICINE, Band 2, Nr. 3, Seiten 299-305 beschreiben ein Verfahren zur Erzeugung von zielsuchenden Liganden für Gentherapie-Vektoren, bei dem Peptidpräsentierende Phagenbibliotheken eingesetzt werden, um Peptide zu selektieren, die an bestimmte Zelltypen binden und von diesen internalisiert werden. Scott and Smith, "Searching for Peptide Ligands with an Epitope Library", SCIENCE, 1990, Band 249, Seiten 386-390 beschreiben die Verwendung einer Bibliothek von Phagenklonen, von denen jeder eine Peptidsequenz auf der Virion-Oberfläche zeigt, zur Selektion von mimetischen Peptiden, die agonistisch, antagonistisch oder modulierend wirken sollen.

45 Derartige Phagendisplay-Bibliotheken sind z. B. von NEW ENGLAND BioLabs Inc. kommerziell erhältlich. Ein Verfahren zum schnellen Testen von Peptidliganden mit einer Phagendisplay-Peptidbibliothek ist in dem Manual Ph.D.-7™ Phage Display Peptide Library Kit von NEW ENGLAND BioLabs Inc. beschrieben. Diese auf dem M13 Phagen basierende Bibliothek erlaubt die Selektion enorm diverser Bibliotheken von Peptiden im Hinblick auf bestimmte Bindungseigenschaften durch einen "Biopanning" genannten in vitro Selektionsprozeß.

50 Der insoweit diskutierte Stand der Technik beschreibt Verfahren zur in vitro Selektion von an Zielstrukturen bindenden Peptiden, um diese Peptide für die Synthese von Chimären oder selbst als funktionale Agenzien zu nutzen.

Bei all diesen Verfahren ist von Nachteil, daß die in vitro gefundenen funktionalen und/oder Bindungseigenschaften der selektierten Peptide bei der in vivo Anwendung durch z. B. den Metabolismus beeinträchtigt werden, so daß die aus diesen Peptiden hergestellten Chimären nicht die erforderliche Selektivität aufweisen.

55 Pasqualini and Ruoslahti, "Organ Targeting in vivo Using Phage Display Peptide Libraries", NATURE 1996, Band 380, Seiten 364-366 beschreiben ein in vivo Verfahren zur Selektion von zielgerichteten Peptiden mit Hilfe von Phagendisplay-Bibliotheken. Sie injizierten die Phagensuspension in Form einer Lösung mit 1014 bzw. 1016 Phagen intravenös in Mäuse und präparierten nach einer Inkubationszeit von ein bis vier Minuten verschiedene Organe, aus denen sie die gebundenen Phagen isolierten. Dieser Selektionsprozeß wurde mehrfach wiederholt und führte zu Phagenpopulationen, die organotrope Peptide präsentieren, die z. B. selektiv an die Blut-Hirnschranke binden sollen. Einige Organe, wie z. B. Leber und Lunge, banden dabei zu viele Phagen, um als Zielorgan für die Selektion eingesetzt zu werden, so daß Pasqualini und Ruoslahti sich auf Peptidsequenzen beschränken mußten, die eine Phagenbindung an Hirn und Niere bewirkten, da diese Organe relativ wenige Phagen aus den unselektierten Bibliotheken banden. Die Autoren schlagen vor, die selektierten Peptide zur Herstellung von Pharmakakonjugaten oder Liposomen mit zielsuchenden Eigenschaften zu verwenden. Als interessante zukünftige Zielstruktur wird die Tumorvasculatur genannt, die eine aktive Angiogenese erfährt und spezifische Marker enthält. Es wird spekuliert, daß es hierdurch möglich werden kann, Therapien direkt in die Tumore zu richten und andere Gewebe zu schonen.

Nach Kenntnis der Erfinder der vorliegenden Anmeldung sind selektive Behandlungs- oder Imagingverfahren, also

Verfahren, bei denen insbesondere pathologisch veränderte Zielstrukturen in vivo zielgerichtet behandelt oder visualisiert werden, nicht in der Anwendung. Die bisherigen Verfahren haben den Nachteil mangelnder Selektivität und verstärkte Nebenwirkungen bedingende hoher Dosierungen.

Vor diesem Hintergrund ist es Aufgabe der vorliegenden Erfindung, ein Verfahren der eingangs genannten Art zu schaffen, das eine effiziente Selektion derartiger Peptide ermöglicht, sowie Peptide der eingangs genannten Art bereitzustellen. 5

Bei dem eingangs genannten Verfahren wird diese Aufgabe gelöst durch die Schritte:

- a) Bereitstellen einer Bibliothek unterschiedlicher Peptide in einer Startlösung,
- b) Applizieren der Startlösung in ein Tier, vorzugsweise eine Ratte, 10
- c) Inkubation des so präparierten Tieres für eine bestimmte Zeitspanne,
- d) Präparation einer Zielstruktur aus dem Tier,
- e) Isolation von Peptiden aus der präparierten Zielstruktur,
- f) Amplifikation der isolierten Peptide,
- g) zumindest einmaliges Wiederholen der obigen Schritte b) 15
- bis f) mit den amplifizierten, isolierten Peptiden aus Schritt f), sowie
- h) Charakterisierung der im Schritt e) isolierten Peptide.

Die der Erfindung zugrunde liegende Aufgabe wird auf diese Weise vollkommen gelöst. Die Erfinder der vorliegenden Anmeldung haben nämlich erkannt, daß Phagendisplay-Bibliotheken auch in vivo eingesetzt werden können, um Peptide zu selektieren, die an pathologisch veränderte Zielstrukturen, Endothelzellen von Tumoren sowie entzündlichen Läsionen, insbesondere autoimmunen Entzündungen des Nervensystems beim Menschen binden, so daß im Tiermodell selektionierte Peptide Kandidaten für entsprechende therapeutische und/oder diagnostische Zubereitungen nicht nur für die Tiermedizin sondern auch für die Humanmedizin sind. 20

Als überraschendes Ergebnis hat sich herausgestellt, daß die selektierten Peptide nicht nur an die Endothelschichten binden, sondern diese auch penetrieren, so daß sie dazu geeignet sind, zum Transport von Pharmaka direkt z. B. in den Tumor eingesetzt zu werden. 25

In diesem Zusammenhang war weiter überraschend, daß die Phagensuspension auch oral, vorzugsweise über eine Magensonde appliziert werden kann, wobei Phagen mit den selektierten Peptiden aus dem Blutspeicher Milz präpariert werden konnten. Die Oberflächenproteine dieser Phagen können damit für die Entwicklung von oral zu applizierenden Arzneimitteln für die Nutztiermedizin verwendet werden. 30

Die Peptide ermöglichen eine Verbesserung des Transportes von Pharmaka über die Mukosaschranke des Gastrointestinalbereiches und damit eine erwünschte Dosisreduzierung. Dies erlaubt auch einen besseren Transport von Antigenen für eine völlig neue Art der Immunmodulation, also der Veränderung der Immunantwort im Sinne einer Immunstimulation oder Immunsuppression. Insbesondere bei Patienten mit Autoimmunerkrankungen und bei Transplantationspatienten können derartige Peptide mit angekoppelten Agenzien zur Induzierung der peripheren Toleranz verwendet werden. 35

Das erfindungsgemäße Verfahren zeichnet sich in diesem Zusammenhang dadurch aus, daß die Startlösung oral, ggf. über eine Magensonde appliziert wird und/oder als Zielstruktur pathologisch veränderte Zielstrukturen ausgewählt werden und/oder die Zeitspanne der Inkubation größer als eine Stunde ist und/oder die Bibliothek unterschiedlicher Peptide eine Phagendisplay-Bibliothek ist, von der in der Startlösung weniger als 10^{14} , vorzugsweise ca. 10^{12} , Peptide präsentierende Phagen enthalten sind. Statt einer Phagendisplay-Bibliothek ist auch eine humane Lymphknoten-Phagenidbibliothek einsetzbar. 40

Überraschend ist zum einen die Möglichkeit der oralen Applikation, es war nicht zu erwarten, daß die Phagensuspension im Milieu des Gastrointestinalbereiches einsetzbar ist, wobei weiter überraschend war, daß die kurzen Peptidbereiche auf der Oberfläche der Phagen die Penetration des gesamten Phagen durch die Darmmukosaschicht vermitteln konnten. 45

Ein besonderer Vorteil ist durch die gegenüber dem Stand der Technik deutlich vergrößerte Inkubationszeit ggf. im Zusammenhang mit der verringerten Zahl von Phagen in der Startlösung zu sehen, weil hierdurch eine bessere Selektion von Phagen möglich wurde, so daß sogar Endothelschichten penetrierende Phagen gefunden werden konnten.

Besonders überraschend ist das Ergebnis, wonach im Rattenmodell selektionierte Peptide, die zielgerichtet gegen Endothelzellen pathologisch veränderter Strukturen gerichtet sind, auch an entsprechende humane Strukturen binden. Damit sind die Ergebnisse des Tiermodells überraschenderweise unmittelbar auf den Menschen anwendbar. 50

Wegen der hohen Spezifität der selektierten Peptide lassen sich diese darüber hinaus nicht nur in therapeutischen sondern auch in diagnostischen Zubereitungen verwenden, mit denen z. B. pathologische Endothelentzündungen bereits im Anfangsstadium visualisiert werden können. Die Auswirkungen auf eine frühzeitige Diagnostik liegen auf der Hand. Bei Patienten mit Verdacht auf Entzündungen kann mit Hilfe von die selektierten Peptide sowie daran gekoppelte Marker enthaltenden pharmazeutischen Zubereitungen der Entzündungsherd sehr frühzeitig lokalisiert werden, so daß geeignete therapeutische Maßnahmen ergriffen werden können. 55

Insgesamt sind die im Rattenmodell gefundenen Peptide Kandidaten für mögliche Steuer- oder Transportpeptide beim Menschen. Es konnte gezeigt werden, daß einige der selektierten Phagen nicht nur an das Endothel binden sondern sich perivaskulär im Tumor befinden, so daß sie für den Pharmakatransport an die angiogenetische Endothelzelle und in den Tumor hinein verwendet werden können. Besonders vorteilhaft ist dabei die hohe Spezifität, denn die selektierten Peptide/Phagen binden nicht an normales Hirnendothel, wohl aber an Endothel subkutaner Tumore sowie an Kryoschnitte humaner Glioblastome. 60

Für den Pharmakatransport ist ferner von Vorteil, daß Phagen, die an pathologisches Tumorendothel binden, auch an Endothel entzündlicher Läsionen binden und ins Hirnparenchym transloziert werden. 65

Gegenstand der Erfindung sind damit auch nach dem Verfahren selektierte Peptide gemäß beigefügter Sequenzliste, wobei die Peptide SEQ-ID No. 1-11 eine Penetration der Darmmukosa vermitteln und die Peptide SEQ-ID No. 12-45

an pathologisch veränderte humane Zielstrukturen binden und in diese transloziert werden.

Die Peptidfragmente SEQ-ID No. 1-45 können Teil eines größeren Peptides sein, dessen Bindung oder Penetration sie vermitteln. Vor diesem Hintergrund betrifft die Erfindung ferner ein Peptid, das zumindest ein Peptidfragment mit einer der Peptidsequenzen SEQ-ID No. 1-45 enthält. Es ist denkbar, daß durch einen Aminosäureaustausch, Verlängerung, Substitution, Insertion und/oder Deletion die erfindungsgemäßen Peptide in der Sequenz verändert werden, jedoch noch immer funktionell vergleichbar sind sowie vorzugsweise an das gleiche Epitop binden, so daß auch derart veränderte Peptidsequenzen von der Erfindung umfaßt sind.

Die kommerzielle Produktion der selektierten Peptide wird in der Regel auf gentechnischem Wege erfolgen, so daß die Erfindung ferner einen Vektor mit zumindest einer für eines der Peptide SEQ-ID No. 1-45 kodierenden DNA-Sequenz betrifft.

Da die selektionierten Peptide für den zielgerichteten Transport therapeutischer und/oder diagnostischer Agenzien verwendet werden können, betrifft die Erfindung ferner die Verwendung derartiger Peptide zur Herstellung eines Arzneimittels, das ein an das Peptid gekoppeltes Therapeutikum und/oder Diagnostikum aufweist.

Ferner betrifft die Erfindung die Verwendung eines derartigen Peptides zur Herstellung einer diagnostischen Zubereitung für die Visualisierung pathologischer Endothelentzündungen.

Es versteht sich, daß die vorstehend erwähnten Merkmale nicht nur in der angegebenen Kombination, sondern auch einzeln oder in anderer Kombination verwendbar sind, ohne den Rahmen der vorliegenden Erfindung zu verlassen.

Die Erfindung wird nachstehend anhand von Beispielen erläutert, aus denen sich weitere Merkmale und Vorteile ergeben.

Zusätzlich zu der Sequenzliste im 1. Letter Code ist noch ein übliches Sequenzprotokoll beigefügt, wobei die Sequenzen in der Sequenzliste bei Abweichungen zum Sequenzprotokoll vorrangig sind.

Beispiel 1

Phagendisplay-Bibliothek

Die benutzte Phagenbibliothek stammte von der Firma NEW ENGLAND BioLabs Inc. und enthielt je 1 ml 10^{12} M13mp19-Phagen. Die generelle Handhabung dieser Heptapeptid-Bibliothek ist beschrieben in Ph.D.-7™ Phage Display Peptide Library Kit. Die Bibliothek zeigt Random-Peptide innerhalb des Gen 111 Proteins mit 3 bis 5 Kopien pro Phagenpartikel.

Als Wirtsbakterium diente E.coli ER2537, der für die Propagation von M13-Phagen gut geeignet ist und ebenfalls von NEW ENGLAND BioLabs bezogen wurde.

Die Phagenbibliothek wurde mittels einer ER2537-Übernachtskultur amplifiziert.

Beispiel 2

Medien und Lösungen

TBS für M13-Phagen: 50 mM Tris-HCl (pH 7,5), 150 mM NaCl
 LB-Medium: 20 g LB (siehe unten), 1 l deionisiertes Wasser
 Top-Agar M13: 2 g LB (1 g Bakterientrypton, 0,5 g Hefeextrakt, 0,5 g NaCl), 1 g Agarose, 100 ml destilliertes Wasser, autoklavieren und bei +4°C aufbewahren
 Grund-Agar M13: 2 g LB (siehe oben), 1,2 g AgarAgar, 100 ml Wasser
 10 × SM: 5,8 g NaCl, 2 g $\text{MgSO}_4 \times 7 \text{ H}_2\text{O}$, 50 ml 1 M Tris × Cl (pH 7,5), 5 ml 2% BSA, Auffüllen mit H_2O auf 1.000 ml
 SM ist die Pufferlösung für die Dialyse von Phagen und schafft ein die Phagen gut konservierendes Ionenmilieu.

Beispiel 3

Applikation, Inkubation und Präparation

Die in SM gelösten und gereinigten Phagen werden mittels einer 1 ml-Spritze über eine Magensonde einer Lewis-Ratte in den Magen appliziert, die in einem Alter von 6-8 Wochen für die Versuche verwendet wird. Die Ratte wird hierzu kurz mit Äther narkotisiert.

Nach einer Inkubationszeit von 2-6 Stunden wird die Ratte erneut narkotisiert und mit PBS perfundiert. Daraufhin wird die Milz entnommen und in ca. 2 ml LB-Medium homogenisiert.

Beispiel 4

M13-Reinigung

Das Organhomogenat aus Beispiel 3 wird zu einer frischen ER2537 Bakterienkultur mit einer OD_{600} von mindestens 0,6 gegeben und 4 1/2 Stunden bei 37°C und 95 rpm inkubiert. Es folgen die Schritte:
 Zentrifugation des Lysates für 30 min mit 4000 rpm bei 4°C.
 Mischen von 80% des Überstandes mit 1/6 Vol 20% Polyethylenglykol/2,5 M NaCl.
 Präzipitieren der Phagen für wenigstens 2 Stunden bei 4°C.
 Sedimentation des Präzipitates für 60 min mit 4000 rpm bei 4°C.
 Lösen des Sedimentes mit Überstand und nochmalige Zentrifugation für 30 min mit 4000 rpm bei 4°C.
 Antrocknen des Sedimentes und Lösen in 2 ml TBS.

Zentrifugation für 10 min bei 10 000 rpm, um störende Partikel zu sedimentieren.
Aufnahme des Überstandes in 200 µl 10 × SM.
Lagerung dieser Phagen-Lösung bei +4°C zum Sequenzieren oder für einen weiteren Durchgang, beginnend oben bei Beispiel 3.

5

Beispiel 5

Titerbestimmung von Phagenkulturen

Der Titer der einzelnen Phagenkulturen aus Beispiel 4 wird mit einem üblichen Plaque Essay über eine Verdünnungsreihe bestimmt. 10

Die selektierten Phagen werden mit der PCR-Technik auf übliche Weise sequenziert und aus der bestimmten Sequenz das Oberflächenprotein abgeleitet, das die Penetration des gesamten Phagen durch die Darmmukosa vermittelt hat.

Die selektierten Peptide sind in der Sequenzliste unter SEQ-ID No. 1-11 aufgeführt.

15

Beispiel 6

Neurotumore/Entzündungen des Nervensystems

Um Peptide zu selektieren, die zielgerichtet an Tumorendothel oder Entzündungsendothel binden, werden Ratten mit den experimentellen Autoimmunerkrankungen Enzephalomyelitis (EAE), Neuritis (EAN) oder Uveitis (EAU) eingesetzt, denen die ursprüngliche oder in der vorhergehenden Runde selektierte Phagenbibliothek injiziert wird. 20

Als Zielgewebe wird Glioblastom, Gliosarkom bzw. neurales Gewebe mit autoimmunen Entzündungen präpariert und die gebundenen Phagen isoliert und amplifiziert, wie oben beschrieben. Die Inkubationszeit beträgt ca. 72 Stunden.

Präparation, Isolation und Amplifikation sowie Charakterisierung der Peptide bzw. Phagen erfolgen wie oben unter Beispiel 3 bis 5 beschrieben. 25

Die so im Tiermodell selektierten Peptide/Phagen wurden dann immunhistologisch untersucht.

Die in der Sequenzliste als SEQ-ID No. 12-27 aufgeführten Peptide banden dabei nicht nur an das Endothel, sondern fanden sich auch perivaskulär im Tumor. Sie können damit nicht nur zum Transport von Pharmaka an die angiogenetische Endothelzelle sondern auch zum Transport direkt in den Tumor eingesetzt werden. 30

Die Phagen binden jedoch nicht an normales Hirnendothel, wohl aber an Endothel subkutaner Tumore sowie an Kryoschnitte humaner Glioblastome.

Beispiel 7

35

Einsatz einer Lymphknoten-Bibliothek

Statt der Phagendisplay-Bibliothek aus Beispiel 6 wird eine humane Lymphknoten-Phagemidbibliothek (EZI nett phage display cDNA Library; $> 2 \times 10^6$ cfu; Maxim Biotech, San Francisco, CA, USA) verwendet, die durch Random-Priming hergestellt wurde und eine Insert-Größe von 0,3 bis 3,0 kB aufweist. Die wie in Beispiel 6 gefundenen und die dort beschriebenen Eigenschaften aufweisenden Phagemidsequenzen sind in der Sequenzliste als SEQ-ID No. 28-45 aufgeführt. 40

Beispiel 8

45

Anwendungsfälle

Neben der "Zielsuche" nach festen Tumoren sowie bei akuten und chronischen Entzündungen und Autoimmunerkrankungen finden die erfindungsgemäßen Peptidsequenzen SEQ-ID No. 1-45 sowie deren an das gleiche Epitop bindenden Varianten Einsatzfelder bei der Beobachtung von allergischen Reaktionen, Gewebeumbau bei Arteriosklerose, Hypertonie und Restenose nach Gefäßwiederherstellung, Transplantatabstoßungen, immunentzündlichen Reaktionen auf Implantate, Brandwunden, Schock bei Hyperplasien sowie benignen Neoplasien oder dem Fortschreiten von Präneoplastischen Läsionen. 50

Die mukosa-gängigen Peptidsequenzen SEQ-ID No. 1-11 können zur Verbesserung oraler Vakzine, insbesondere auch aus transgenen Pflanzen verwendet werden. 55

60

65

DE 198 45 251 A 1

Sequenzliste (1-Letter-Code)

	SEQ-ID No. 1	Y P R L L T P
5	SEQ-ID No. 2	W P Y P P A G
	SEQ-ID No. 3	Y T P P S V S
	SEQ-ID No. 4	A H L K A S I
10	SEQ-ID No. 5	T H F P S W N
	SEQ-ID No. 6	S N L S P R T
15	SEQ-ID No. 7	A V F V K E L
	SEQ-ID No. 8	L P T P W R P
	SEQ-ID No. 9	A G I A L A F
20	SEQ-ID No. 10	G S P H V E H
	SEQ-ID No. 11	S K L E S H A
25	SEQ-ID No. 12	N I P Y N P Y
	SEQ-ID No. 13	V L A S P L N
	SEQ-ID No. 14	N L G L E T S
30	SEQ-ID No. 15	G N S L S F P
	SEQ-ID No. 16	I R T P S T V
35	SEQ-ID No. 17	E L V K I F S
	SEQ-ID No. 18	V A V T D S R
40	SEQ-ID No. 19	A I S P R T F
	SEQ-ID No. 20	N I S Y N A Y
	SEQ-ID No. 21	D A T R L S S
45	SEQ-ID No. 22	T H V H M L S
	SEQ-ID No. 23	H P T K W P L
50	SEQ-ID No. 24	S L P P K T T
	SEQ-ID No. 25	A H E H T Y A
	SEQ-ID No. 26	V G N N N Y P
55	SEQ-ID No. 27	D H L H S S R

60

65

DE 198 45 251 A 1

SEQ-ID No. 28	P P T V K R K M N P R A Q S T A A D H R T R G S T R E F R T G T C R R	
SEQ-ID No. 29	N T T H Y R G C A A R R L S W V T P G F S Q S R R C K T T A S E L Y L G D T I E E L	5
SEQ-ID No. 30	T E L E F R V F Y X V X V T	10
SEQ-ID No. 31	T K R E N A E C V K L Q R D P	
SEQ-ID No. 32	P V N C I	15
SEQ-ID No. 33	P P P R P S R T A R S W G T W R	
SEQ-ID No. 34	T G P E F P G R P T R P V L D R E R P L	20
SEQ-ID No. 35	T G P E F P G R P T R P V L D R E R P L	
SEQ-ID No. 36	T S F P Y S E S Y	25
SEQ-ID No. 37	T E L E F R V F Y S V T	
SEQ-ID No. 38	T V L Q Y L G R V V	30
SEQ-ID No. 39	T G P E F P G R P T R P L	
SEQ-ID No. 40	T G P E F P G R P T R P K K T C F	35
SEQ-ID No. 41	T P G P R S H W D Q H R L A C F F W F G I P Q L A G S R G C W S H S N L P Q S C E E A S S R C K K S S R R W E G L S P L V L R A L E S R R Q L A	40
SEQ-ID No. 42	P T M G V K F F T L S T R F F P S V Q R A V P L W T N S	45
SEQ-ID No. 43	P P P R P S R T A R S W G T W R	
SEQ-ID No. 44	P P F F F F F F L E Q Q H R H F I S F H	50
SEQ-ID No. 45	T S Y I V F P C F S	55

60

65

DE 198 45 251 A 1

SEQUENZPROTOKOLL

ALLGEMEINE ANGABEN:

- 5 (i) ANMELDER:
(A) NAME: Eberhard-Karls-Universitaet Tuebingen
(B) STRASSE: Geissweg 3
(C) ORT: Tuebingen
10 (E) LAND: Germany
(F) POSTLEITZAHL: 72076
(G) TELEFON: 07071-29-1
(H) TELEFAX: 07071-293966
15
- (ii) BEZEICHNUNG DER ERFINDUNG: Peptide für Pharmatargeting
- (iii) ANZAHL DER SEQUENZEN: 45
20
- (iv) COMPUTER-LESBARE FASSUNG:
(A) DATENTRÄGER: Diskette - 3½", 1,44 Mb
(B) COMPUTER: IBM PC compatible
25 (C) BETRIEBSSYSTEM: PC-DOS/MS-DOS
(D) SOFTWARE: PatentIn Release #1.0, Version #1.30 (EPA)
- 30 Daten der Jetzigen Anmeldung:
Anwaltsakte 5402P162

35

ANGABEN ZU SEQ ID NO: 1:

- 40 (i) SEQUENZKENNZEICHEN:
(A) LÄNGE: 7 Aminosäuren
(B) ART: Aminosäure
45 (C) STRANGFORM:
(D) TOPOLOGIE: linear
- (ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid
- 50 (iii) HYPOTHETISCH:
- 55 (ix) MERKMAL:
(A) NAME/SCHLÜSSEL: Peptide
- (xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 1:
60 Tyr Pro Arg Leu Leu Thr Pro
1 5

65

ANGABEN ZU SEQ ID NO: 2:

- (i) SEQUENZKENNZEICHEN:
 - (A) LÄNGE: 7 Aminosäuren 5
 - (B) ART: Aminosäure
 - (C) STRANGFORM:
 - (D) TOPOLOGIE: linear 10
- (ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid
- (iii) HYPOTHETISCH: 15
- (ix) MERKMAL:
 - (A) NAME/SCHLÜSSEL: Peptide 20
- (xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 2:
 - Trp Pro Tyr Pro Pro Ala Gly 25
 - 1 5

ANGABEN ZU SEQ ID NO: 3:

- (i) SEQUENZKENNZEICHEN:
 - (A) LÄNGE: 7 Aminosäuren
 - (B) ART: Aminosäure 35
 - (C) STRANGFORM:
 - (D) TOPOLOGIE: linear
- (ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid 40
- (iii) HYPOTHETISCH:
- (ix) MERKMAL:
 - (A) NAME/SCHLÜSSEL: Peptide 45
- (xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 3:
 - Tyr Thr Pro Pro Ser Val Ser 50
 - 1 5

ANGABEN ZU SEQ ID NO: 4:

- (i) SEQUENZKENNZEICHEN:
 - (A) LÄNGE: 7 Aminosäuren 60
 - (B) ART: Aminosäure
 - (C) STRANGFORM:
 - (D) TOPOLOGIE: linear 65
- (ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(iii) HYPOTHETISCH:

(ix) MERKMAL:

(A) NAME/SCHLÜSSEL: Peptide

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 4:

Ala His Leu Lys Ala Ser Ile
1 5

ANGABEN ZU SEQ ID NO: 5:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

(A) LÄNGE: 7 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(C) STRANGFORM:

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(iii) HYPOTHETISCH:

(ix) MERKMAL:

(A) NAME/SCHLÜSSEL: Peptide

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 5:

Thr His Phe Pro Ser Trp Asn
1 5

ANGABEN ZU SEQ ID NO: 6:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

(A) LÄNGE: 7 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(C) STRANGFORM:

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(iii) HYPOTHETISCH:

(ix) MERKMAL:

(A) NAME/SCHLÜSSEL: Peptide

DE 198 45 251 A 1

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 6:

Ser Asn Leu Ser Pro Arg Thr
1 5

5

ANGABEN ZU SEQ ID NO: 7:

10

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

(A) LÄNGE: 7 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(C) STRANGFORM:

(D) TOPOLOGIE: linear

15

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

20

(iii) HYPOTHETISCH:

(ix) MERKMAL:

(A) NAME/SCHLÜSSEL: Peptide

25

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 7:

30

Ala Val Phe Val Lys Glu Leu
1 5

35

ANGABEN ZU SEQ ID NO: 8:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

(A) LÄNGE: 7 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(C) STRANGFORM:

(D) TOPOLOGIE: linear

40

45

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(iii) HYPOTHETISCH:

50

(ix) MERKMAL:

(A) NAME/SCHLÜSSEL: Peptide

55

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 8:

Leu Pro Thr Pro Trp Arg Pro
1 5

60

65

ANGABEN ZU SEQ ID NO: 9:

- 5 (i) SEQUENZKENNZEICHEN:
(A) LÄNGE: 7 Aminosäuren
(B) ART: Aminosäure
(C) STRANGFORM:
10 (D) TOPOLOGIE: linear
- (ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid
- 15 (iii) HYPOTHETISCH:
- (ix) MERKMAL:
(A) NAME/SCHLÜSSEL: Peptide
- 20
- (xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 9:
- 25 Ala Gly Ile Ala Leu Ala Phe
1 5

30 ANGABEN ZU SEQ ID NO: 10:

- (i) SEQUENZKENNZEICHEN:
(A) LÄNGE: 7 Aminosäuren
35 (B) ART: Aminosäure
(C) STRANGFORM:
(D) TOPOLOGIE: linear
- 40 (ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid
- (iii) HYPOTHETISCH:
- 45 (ix) MERKMAL:
(A) NAME/SCHLÜSSEL: Peptide
- 50 (xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 10:
- Gly Ser Pro His Val Glu His
1 5
- 55

ANGABEN ZU SEQ ID NO: 11:

- 60 (i) SEQUENZKENNZEICHEN:
(A) LÄNGE: 7 Aminosäuren
(B) ART: Aminosäure
(C) STRANGFORM:
65 (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid	
(iii) HYPOTHETISCH:	5
(ix) MERKMAL:	
(A) NAME/SCHLÜSSEL: Peptide	10
(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 11:	
Ser Lys Leu Glu Ser His Ala	15
1 5	
ANGABEN ZU SEQ ID NO: 12:	20
(i) SEQUENZKENNZEICHEN:	
(A) LÄNGE: 7 Aminosäuren	
(B) ART: Aminosäure	25
(C) STRANGFORM:	
(D) TOPOLOGIE: linear	
(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid	30
(iii) HYPOTHETISCH:	
(ix) MERKMAL:	35
(A) NAME/SCHLÜSSEL: Peptide	
(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 12:	40
Asn Ile Pro Tyr Asn Pro Tyr	
1 5	45
ANGABEN ZU SEQ ID NO: 13:	
(i) SEQUENZKENNZEICHEN:	50
(A) LÄNGE: 7 Aminosäuren	
(B) ART: Aminosäure	
(C) STRANGFORM:	
(D) TOPOLOGIE: linear	55
(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid	
(iii) HYPOTHETISCH:	60
(ix) MERKMAL:	
(A) NAME/SCHLÜSSEL: Peptide	65

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 13:

5 Val Leu Ala Ser Pro Leu Asn
1 5

10 ANGABEN ZU SEQ ID NO: 14:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

- 15 (A) LÄNGE: 7 Aminosäuren
(B) ART: Aminosäure
(C) STRANGFORM:
(D) TOPOLOGIE: linear

20 (ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(iii) HYPOTHETISCH:

25 (ix) MERKMAL:

- (A) NAME/SCHLÜSSEL: Peptide

30 (xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 14:

35 Asn Leu Gly Leu Glu Thr Ser
1 5

ANGABEN ZU SEQ ID NO: 15:

40 (i) SEQUENZKENNZEICHEN:

- 45 (A) LÄNGE: 7 Aminosäuren
(B) ART: Aminosäure
(C) STRANGFORM:
(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

50 (iii) HYPOTHETISCH:

(ix) MERKMAL:

- 55 (A) NAME/SCHLÜSSEL: Peptide

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 15:

60 Gly Asn Ser Leu Ser Phe Pro
1 5

65

ANGABEN ZU SEQ ID NO: 16:

- (i) SEQUENZKENNZEICHEN:
 - (A) LÄNGE: 7 Aminosäuren 5
 - (B) ART: Aminosäure
 - (C) STRANGFORM:
 - (D) TOPOLOGIE: linear 10
- (ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid
- (iii) HYPOTHETISCH: 15
- (ix) MERKMAL:
 - (A) NAME/SCHLÜSSEL: Peptide 20
- (xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 16:
 - Ile Arg Thr Pro Ser Thr Val 25
 - 1 5

ANGABEN ZU SEQ ID NO: 17:

- (i) SEQUENZKENNZEICHEN:
 - (A) LÄNGE: 7 Aminosäuren 35
 - (B) ART: Aminosäure
 - (C) STRANGFORM:
 - (D) TOPOLOGIE: linear 40
- (ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid
- (iii) HYPOTHETISCH: 45
- (ix) MERKMAL:
 - (A) NAME/SCHLÜSSEL: Peptide 50
- (xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 17:
 - Glu Leu Val Lys Ile Phe Ser 55
 - 1 5

ANGABEN ZU SEQ ID NO: 18:

- (i) SEQUENZKENNZEICHEN:
 - (A) LÄNGE: 7 Aminosäuren 65
 - (B) ART: Aminosäure
 - (C) STRANGFORM:
 - (D) TOPOLOGIE: linear 60

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(iii) HYPOTHETISCH:

(ix) MERKMAL:

(A) NAME/SCHLÜSSEL: Peptide

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 18:

Val Ala Val Thr Asp Ser Arg
1 5

ANGABEN ZU SEQ ID NO: 19:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

(A) LÄNGE: 7 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(C) STRANGFORM:

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(iii) HYPOTHETISCH:

(ix) MERKMAL:

(A) NAME/SCHLÜSSEL: Peptide

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 19:

Ala Ile Ser Pro Arg Thr Phe
1 5

ANGABEN ZU SEQ ID NO: 20:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

(A) LÄNGE: 7 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(C) STRANGFORM:

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(iii) HYPOTHETISCH:

(ix) MERKMAL:

(A) NAME/SCHLÜSSEL: Peptide

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 20:

Asn Ile Ser Tyr Asn Ala Tyr
1 5

5

ANGABEN ZU SEQ ID NO: 21:

10

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

(A) LÄNGE: 7 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(C) STRANGFORM:

(D) TOPOLOGIE: linear

15

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

20

(iii) HYPOTHETISCH:

(ix) MERKMAL:

(A) NAME/SCHLÜSSEL: Peptide

25

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 21:

30

Asp Ala Thr Arg Leu Ser Ser
1 5

35

ANGABEN ZU SEQ ID NO: 22:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

40

(A) LÄNGE: 7 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(C) STRANGFORM:

(D) TOPOLOGIE: linear

45

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(iii) HYPOTHETISCH:

50

(ix) MERKMAL:

(A) NAME/SCHLÜSSEL: Peptide

55

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 22:

Thr His Val His Met Leu Ser
1 5

60

65

ANGABEN ZU SEQ ID NO: 23:

- (i) SEQUENZKENNZEICHEN:
 (A) LÄNGE: 7 Aminosäuren
 (B) ART: Aminosäure
 (C) STRANGFORM:
 (D) TOPOLOGIE: linear
- (ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid
- (iii) HYPOTHETISCH:
- (ix) MERKMAL:
 (A) NAME/SCHLÜSSEL: Peptide
- (xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 23:
- His Pro Thr Lys Trp Pro Leu
 1 5

ANGABEN ZU SEQ ID NO: 24:

- (i) SEQUENZKENNZEICHEN:
 (A) LÄNGE: 7 Aminosäuren
 (B) ART: Aminosäure
 (C) STRANGFORM:
 (D) TOPOLOGIE: linear
- (ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid
- (iii) HYPOTHETISCH:
- (ix) MERKMAL:
 (A) NAME/SCHLÜSSEL: Peptide
- (xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 24:
- Ser Leu Pro Pro Lys Thr Thr
 1 5

ANGABEN ZU SEQ ID NO: 25:

- (i) SEQUENZKENNZEICHEN:
 (A) LÄNGE: 7 Aminosäuren
 (B) ART: Aminosäure
 (C) STRANGFORM:
 (D) TOPOLOGIE: linear
- (ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(iii) HYPOTHETISCH:

(ix) MERKMAL:

(A) NAME/SCHLÜSSEL: Peptide

5

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 25:

Ala His Glu His Thr Tyr Ala
1 5

10

ANGABEN ZU SEQ ID NO: 26:

15

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

(A) LÄNGE: 7 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(C) STRANGFORM:

(D) TOPOLOGIE: linear

20

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

25

(iii) HYPOTHETISCH:

(ix) MERKMAL:

(A) NAME/SCHLÜSSEL: Peptide

30

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 26:

35

Val Gly Asn Asn Asn Tyr Pro
1 5

40

ANGABEN ZU SEQ ID NO: 27:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

(A) LÄNGE: 7 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(C) STRANGFORM:

(D) TOPOLOGIE: linear

45

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

50

(iii) HYPOTHETISCH:

55

(ix) MERKMAL:

(A) NAME/SCHLÜSSEL: Peptide

60

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 27:

Asp His Leu His Ser Ser Arg
1 5

65

ANGABEN ZU SEQ ID NO: 28:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

- (A) LÄNGE: 35 Aminosäuren
 (B) ART: Aminosäure
 (C) STRANGFORM:
 (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(iii) HYPOTHETISCH:

(ix) MERKMAL:

- (A) NAME/SCHLÜSSEL: Peptide

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 28:

Pro	Pro	Thr	Val	Lys	Arg	Lys	Met	Asn	Pro	Arg	Ala	Gln	Ser	Thr	Ala
1				5					10					15	
Ala	Asp	His	Arg	Thr	Arg	Gly	Ser	Thr	Arg	Glu	Phe	Arg	Thr	Gly	Thr
			20					25					30		
Cys	Arg	Arg													
			35												

ANGABEN ZU SEQ ID NO: 29:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

- (A) LÄNGE: 42 Aminosäuren
 (B) ART: Aminosäure
 (C) STRANGFORM:
 (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(iii) HYPOTHETISCH:

(ix) MERKMAL:

- (A) NAME/SCHLÜSSEL: Peptide

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 29:

Asn	Thr	Thr	His	Tyr	Arg	Gly	Cys	Ala	Ala	Arg	Arg	Leu	Ser	Trp	Val
1				5					10					15	
Thr	Pro	Gly	Phe	Ser	Gln	Ser	Arg	Arg	Cys	Lys	Thr	Thr	Ala	Ser	Glu
			20					25					30		
Leu	Tyr	Leu	Gly	Asp	Thr	Ile	Glu	Glu	Leu						
		35					40								

DE 198 45 251 A 1

ANGABEN ZU SEQ ID NO: 30:

- (i) SEQUENZKENNZEICHEN:
 - (A) LÄNGE: 14 Aminosäuren 5
 - (B) ART: Aminosäure
 - (C) STRANGFORM:
 - (D) TOPOLOGIE: linear 10
- (ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid
- (iii) HYPOTHETISCH: 15
- (ix) MERKMAL:
 - (A) NAME/SCHLÜSSEL: Peptide 20
- (xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 30:

Thr	Glu	Leu	Glu	Phe	Arg	Val	Phe	Tyr	Xaa	Val	Xaa	Val	Thr	
1				5					10					

 25

ANGABEN ZU SEQ ID NO: 31:

- (i) SEQUENZKENNZEICHEN:
 - (A) LÄNGE: 15 Aminosäuren
 - (B) ART: Aminosäure
 - (C) STRANGFORM:
 - (D) TOPOLOGIE: linear 35
- (ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid 40
- (iii) HYPOTHETISCH:
- (ix) MERKMAL:
 - (A) NAME/SCHLÜSSEL: Peptide 45
- (xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 31:

Thr	Lys	Arg	Glu	Asn	Ala	Glu	Cys	Val	Lys	Leu	Gln	Arg	Asp	Pro	
1				5					10					15	

 55

ANGABEN ZU SEQ ID NO: 32:

- (i) SEQUENZKENNZEICHEN:
 - (A) LÄNGE: 5 Aminosäuren 60
 - (B) ART: Aminosäure
 - (C) STRANGFORM:
 - (D) TOPOLOGIE: linear 65
- (ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(iii) HYPOTHETISCH:

(ix) MERKMAL:

5 (A) NAME/SCHLÜSSEL: Peptide

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 32:

10

Pro Val Asn Cys Ile
1 5

15

ANGABEN ZU SEQ ID NO: 33:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

20

(A) LÄNGE: 16 Aminosäuren
(B) ART: Aminosäure
(C) STRANGFORM:
(D) TOPOLOGIE: linear

25

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(iii) HYPOTHETISCH:

30

(ix) MERKMAL:

(A) NAME/SCHLÜSSEL: Peptide

35

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 33:

40

Pro Pro Pro Arg Pro Ser Arg Thr Ala Arg Ser Trp Gly Thr Trp Arg
1 5 10 15

ANGABEN ZU SEQ ID NO: 34:

45

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

(A) LÄNGE: 20 Aminosäuren
(B) ART: Aminosäure
(C) STRANGFORM:
(D) TOPOLOGIE: linear

50

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

55

(iii) HYPOTHETISCH:

(ix) MERKMAL:

60

(A) NAME/SCHLÜSSEL: Peptide

65

DE 198 45 251 A 1

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 34:

Thr	Gly	Pro	Glu	Phe	Pro	Gly	Arg	Pro	Thr	Arg	Pro	Val	Leu	Asp	Arg	5
1				5				10					15			

Glu	Arg	Pro	Leu	
			20	

10

ANGABEN ZU SEQ ID NO: 35:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

15

(A) LÄNGE: 20 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(C) STRANGFORM:

(D) TOPOLOGIE: linear

20

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(iii) HYPOTHETISCH:

25

(ix) MERKMAL:

(A) NAME/SCHLÜSSEL: Peptide

30

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 35:

Thr	Gly	Pro	Glu	Phe	Pro	Gly	Arg	Pro	Thr	Arg	Pro	Val	Leu	Asp	Arg	35
1				5				10					15			

Glu	Arg	Pro	Leu	
			20	

40

ANGABEN ZU SEQ ID NO: 36:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

45

(A) LÄNGE: 9 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(C) STRANGFORM:

(D) TOPOLOGIE: linear

50

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(iii) HYPOTHETISCH:

55

(ix) MERKMAL:

(A) NAME/SCHLÜSSEL: Peptide

60

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 36:

Thr	Ser	Phe	Pro	Tyr	Ser	Glu	Ser	Tyr	
1				5					

65

ANGABEN ZU SEQ ID NO: 37:

- 5 (i) SEQUENZKENNZEICHEN:
 (A) LÄNGE: 12 Aminosäuren
 (B) ART: Aminosäure
 (C) STRANGFORM:
 (D) TOPOLOGIE: linear
 10 (ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid
 (iii) HYPOTHETISCH:
 15 (ix) MERKMAL:
 (A) NAME/SCHLÜSSEL: Peptide
 20 (xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 37:
 25 Thr Glu Leu Glu Phe Arg Val Phe Tyr Ser Val Thr
 1 5 10

ANGABEN ZU SEQ ID NO: 38:

- 30 (i) SEQUENZKENNZEICHEN:
 (A) LÄNGE: 10 Aminosäuren
 (B) ART: Aminosäure
 35 (C) STRANGFORM:
 (D) TOPOLOGIE: linear
 (ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid
 40 (iii) HYPOTHETISCH:
 (ix) MERKMAL:
 45 (A) NAME/SCHLÜSSEL: Peptide
 (xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 38:
 50 Thr Val Leu Gln Tyr Leu Gly Arg Val Val
 1 5 10

ANGABEN ZU SEQ ID NO: 39:

- 60 (i) SEQUENZKENNZEICHEN:
 (A) LÄNGE: 13 Aminosäuren
 (B) ART: Aminosäure
 (C) STRANGFORM:
 (D) TOPOLOGIE: linear
 65 (ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(iii) HYPOTHETISCH:

(ix) MERKMAL:

(A) NAME/SCHLÜSSEL: Peptide

5

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 39:

10

Thr Gly Pro Glu Phe Pro Gly Arg Pro Thr Arg Pro Leu
1 5 10

15

ANGABEN ZU SEQ ID NO: 40:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

(A) LÄNGE: 17 Aminosäuren

20

(B) ART: Aminosäure

(C) STRANGFORM:

(D) TOPOLOGIE: linear

25

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(iii) HYPOTHETISCH:

30

(ix) MERKMAL:

(A) NAME/SCHLÜSSEL: Peptide

35

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 40:

Thr Gly Pro Glu Phe Pro Gly Arg Pro Thr Arg Pro Lys Lys Thr Cys 40
1 5 10 15

Phe

45

ANGABEN ZU SEQ ID NO: 41:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

50

(A) LÄNGE: 72 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(C) STRANGFORM:

(D) TOPOLOGIE: linear

55

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(iii) HYPOTHETISCH:

60

(ix) MERKMAL:

(A) NAME/SCHLÜSSEL: Peptide

65

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 41:

5 Thr Pro Gly Pro Arg Ser His Trp Asp Gln His Arg Leu Ala Cys Phe
1 5 10 15

Phe Trp Phe Gly Ile Pro Gln Leu Ala Gly Ser Arg Gly Cys Trp Ser
20 25 30

10 His Ser Asn Leu Pro Gln Ser Cys Glu Glu Ala Ser Ser Arg Cys Lys
35 40 45

15 Lys Ser Ser Arg Arg Trp Glu Gly Leu Ser Pro Leu Val Leu Arg Ala
50 55 60

20 Leu Glu Ser Arg Arg Gln Leu Ala
65 70

ANGABEN ZU SEQ ID NO: 42:

25

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

- (A) LÄNGE: 28 Aminosäuren
- (B) ART: Aminosäure
- (C) STRANGFORM:
- (D) TOPOLOGIE: linear

30

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

35

(iii) HYPOTHETISCH:

(ix) MERKMAL:

- (A) NAME/SCHLÜSSEL: Peptide

40

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 42:

45

Pro Thr Met Gly Val Lys Phe Phe Thr Leu Ser Thr Arg Phe Phe Pro
1 5 10 15

50

Ser Val Gln Arg Ala Val Pro Leu Trp Thr Asn Ser
20 25

ANGABEN ZU SEQ ID NO: 43:

55

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

- (A) LÄNGE: 16 Aminosäuren
- (B) ART: Aminosäure
- (C) STRANGFORM:
- (D) TOPOLOGIE: linear

60

65

DE 198 45 251 A 1

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(iii) HYPOTHETISCH:

5

(ix) MERKMAL:

(A) NAME/SCHLÜSSEL: Peptide

10

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 43:

15

Pro Pro Pro Arg Pro Ser Arg Thr Ala Arg Ser Trp Gly Thr Trp Arg
1 5 10 15

20

ANGABEN ZU SEQ ID NO: 44:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

(A) LÄNGE: 20 Aminosäuren

25

(B) ART: Aminosäure

(C) STRANGFORM:

(D) TOPOLOGIE: linear

30

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(iii) HYPOTHETISCH:

35

(ix) MERKMAL:

(A) NAME/SCHLÜSSEL: Peptide

40

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 44:

Pro Pro Phe Phe Phe Phe Phe Phe Leu Glu Gln Gln His Arg His Phe
1 5 10 15

45

Ile Ser Phe His
20

50

ANGABEN ZU SEQ ID NO: 45:

55

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

(A) LÄNGE: 10 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(C) STRANGFORM:

(D) TOPOLOGIE: linear

60

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

65

(iii) HYPOTHETISCH:

5 (ix) MERKMAL:
(A) NAME/SCHLÜSSEL: Peptide

10

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 45:

15 Thr Ser Tyr Ile Val Phe Pro Cys Phe Ser
1 5 10

Patentansprüche

- 20 1. Verfahren zur Selektion von Peptiden für zielgerichteten Pharmaka- und/oder Markertransport, mit den Schritten:
- a) Bereitstellen einer Bibliothek unterschiedlicher Peptide in einer Startlösung,
 - b) Applizieren der Startlösung in ein Tier, vorzugsweise eine Ratte,
 - c) Inkubation des so präparierten Tieres für eine bestimmte Zeitspanne,
 - 25 d) Präparation einer Zielstruktur aus dem Tier,
 - e) Isolation von Peptiden aus der präparierten Zielstruktur,
 - f) Amplifikation der isolierten Peptide,
 - g) zumindest einmaliges Wiederholen der Schritte b) bis f) mit den amplifizierten, isolierten Peptiden aus Schritt f), sowie
 - 30 h) Charakterisierung der im Schritt e) isolierten Peptide.
2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die Zeitspanne im Schritt c) größer als eine Stunde, vorzugsweise größer als zwei Stunden ist.
3. Verfahren nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, daß im Schritt b) die Startlösung dem Tier oral, vorzugsweise über eine Magensonde appliziert wird.
- 35 4. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, daß im Schritt a) eine Phagendisplay-Bibliothek bereitgestellt wird und im Schritt b) in der Startlösung weniger als 10^{14} , vorzugsweise ca. 10^{12} aktive Phagen appliziert werden.
5. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, daß im Schritt d) ein pathologisch verändertes Zielgewebe des Tieres präpariert wird.
- 40 6. Peptid, das zumindest ein Peptidfragment mit einer der Peptidsequenzen SEQ-ID No. 1-45 aus der Sequenzliste enthält.
7. Peptid mit einer Aminosäure-Sequenz gemäß einer der Sequenzen SEQ-ID No. 1-45 aus der Sequenzliste.
8. Peptid mit einer Aminosäure-Sequenz gemäß Anspruch 6 oder 7, wobei zumindest eine der Aminosäuren ersetzt ist durch eine strukturell und/oder funktionell vergleichbare Aminosäure.
- 45 9. Peptid mit einer Aminosäure-Sequenz, die unter Beibehaltung der Funktion durch Verlängerung, Substitution, Insertion und/oder Deletion aus einem Peptid gemäß Anspruch 6 oder 7 hervorgegangen ist.
10. Peptid, das an das gleiche Epitop bindet wie ein Peptid gemäß einem der Ansprüche 6 bis 9.
11. Vektor mit zumindest einer für ein Peptid mit einer Peptidsequenz gemäß einem der Ansprüche 6 bis 10 kodierenden DNA-Sequenz.
- 50 12. Verwendung eines nach dem Verfahren gemäß einem der Ansprüche 1 bis 5 selektierten Peptides, insbesondere eines Peptides gemäß einem der Ansprüche 6 bis 10 zur Herstellung eines Arzneimittels, das ein an das Peptid gekoppeltes Therapeutikum aufweist.
13. Verwendung eines nach dem Verfahren gemäß einem der Ansprüche 1 bis 5 selektierten Peptides, insbesondere eines Peptides gemäß einem der Ansprüche 6 bis 10 zur Herstellung eines Arzneimittels, das ein an das Peptid gekoppeltes Diagnostikum aufweist.
- 55 14. Verwendung eines nach dem Verfahren gemäß einem der Ansprüche 1 bis 5 selektierten Peptides, insbesondere eines Peptides gemäß einem der Ansprüche 6 bis 10 zur Herstellung einer diagnostischen Zubereitung für die Visualisierung pathologischer Endothelentzündungen.

60

65